

VERWENDUNG VON ISOMALT (MISCHUNG VON 1,6 GPS UND 1,1 GPM) ALS PRÄBIOTIKUM U.A.
ZUR HERSTELLUNG EINES ARZNEIMITTELS ZUR BEHANDLUNG VON DARMERKRANKUNGEN

Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung einer Mischung aus 6-O- α -D-Glucopyranosyl-D-sorbit (1,6-GPS) und 1-O- α -D-
5 Glucopyranosyl-D-mannit (1,1-GPM) als Präbiotikum und/oder butyratlieferndes, partiell verdauliches und die Darmgesundheit förderndes Kohlenhydrat in Lebens-, Genuss-, Futter- und/oder Arzneimitteln.

10 Nahrungs-, Genuss- und Futtermittel dienen in erster Linie der Ernährung und dem Wohlbefinden des menschlichen und tierischen Konsumenten. Neben diesen beiden Aspekten wird von Nahrungs- und Genussmitteln zunehmend auch eine gesundheitsfördernde Funktion erwartet. Lebens- und Genussmittel sollen einerseits die
15 Gesundheit erhalten und fördern, andererseits schädliche Einflüsse abwehren und gegebenenfalls prophylaktisch gegen Krankheiten wirken. Bestimmungsgemäß entfalten derartige gesundheitsfördernde Nahrungs- und Genussmittel ihre Wirkung vorwiegend im Verdauungstrakt. Im vorderen Verdauungstrakt werden die aufgenommenen Nährstoffe aufgeschlossen und teilweise resorbiert. Nicht
20 verdauliche Kohlenhydrate gelangen in den Dickdarm und stehen dort der mikrobiellen Darmflora zur Verfügung. Zu dieser Darmflora zählen Bakterien wie *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Atopobium* und *Fusobacterium*. Daneben kommen *Escherichia coli* und fakultativ pathogene Mikroorganismen wie
25 Clostridien, Staphylokokken oder andere Enterobacteriaceen vor. Lactobakterien, insbesondere Bifidobakterien sind bekannt dafür, gesundheitsfördernde Eigenschaften aufzuweisen. Sie produzieren in hohem Maße kurzkettige organische Säuren und Hemmstoffe, die das Wachstum und die Aktivität schädlicher Bakterien limitieren,
30 welche unerwünschte Enzyme wie β -Glucosidasen, β -Glucuronidasen oder Azoreduktasen bilden. Die Bedeutung einiger unerwünschter bakterieller Enzyme wie β -Glucosidasen liegt in der

- Bildung, Aktivierung und Freisetzung von toxischen, karzinogenen und ko-karzinogenen Verbindungen aus körpereigenen und exogenen Substanzen. Durch die bakterielle β -Glucosidase werden beispielsweise toxische Aglykone aus Glycosiden freigesetzt. Durch
- 5 Hemmung schädlicher Bakterien und damit Hemmung der Aktivität bakterieller Enzyme wie der β -Glucosidase wird die Produktion von Endotoxinen und karzinogenen Verbindungen eingeschränkt sowie die Ausscheidung von Xenobiotika verbessert. Eine weitere positive
- 10 Eigenschaft der gesundheitsförderlichen Darmflora umfasst immunmodulatorische Wirkungen sowie die Stimulierung der Immunfunktion. Durch Hemmung schädlicher und pathogener Bakterien besitzen Lactobakterien, insbesondere Bifidobakterien, darüber hinaus auch eine protektive und präventive Wirkung gegenüber Darminfektionen, insbesondere bakteriellen Durchfallerkrankungen.
- 15 Kurzkettige Fettsäuren wie Buttersäure (Butyrat) werden fermentativ von saccharolytischen Bakterien des Dickdarms insbesondere aus nicht verdauten Kohlenhydraten gebildet. Buttersäure stellt im Colon die dominierende Energiequelle für die Epithelzellen dar, beeinflusst die zelluläre Proliferation und Differenzierung und spielt eine zentrale
- 20 Rolle als Wachstumsfaktor für ein gesundes Darmepithel und bei der Aufrechterhaltung der mukosalen Barriere im Colon. Kurzkettige Fettsäuren wie Buttersäure oder deren Salze, Butyrat, tragen zur Entgiftung möglicher mutagener Stoffwechselprodukte im Dickdarm bei und wirken dem oxidativen Stress entgegen, beispielsweise über
- 25 die Induktion der Genexpression protektiver Proteine wie der intestinalen Glutathion-S-Transferase oder der Hemmung der Ornithin-Decarboxylase. Des Weiteren wirken kurzkettige Fettsäuren wie Buttersäure kontrollierend auf die Induktion spezifischer Gene und die Modifizierung von Proteinen der Zellzyklusregulation, antibakterieller
- 30 Peptide und Signalkaskaden. Hohe Buttersäurekonzentrationen im Dickdarm, insbesondere in hinteren Dickdarmbereichen unterstützen ein gesundes Darmmilieu und ein gesundes Darmepithel, verbessern Symptome von ulzerativen Entzündungen des Kolons und sind

protektiv in der Kolonkarzinogenese, das heißt gelten als Dickdarmkrebsrisiko reduzierend.

Es ist wünschenswert, die auf die menschliche oder tierische Gesundheit positiv wirkende Darmflora zu fördern und darüber hinaus
5 eine Produktion von großen Mengen an Buttersäure, insbesondere auch in hinteren Dickdarmabschnitten zu erreichen. Dies kann durch die Zufuhr geeigneter Substrate, zur Verbesserung der Lebensbedingungen für die gesundheitsförderliche Darmflora und von Substraten für die mikrobielle Bildung von Buttersäure, auch in hinteren
10 Dickdarmbereichen, erreicht werden.

Substanzen oder Substanzgemische, die als Bestandteile von Nahrungs- oder Genussmitteln selektiv das Wachstum und/oder die Aktivität spezifischer gesundheitsfördernder Darmbakterien fördern, insbesondere Bifidobakterien und Lactobacillen, werden als Präbiotika
15 bezeichnet. Präbiotika fördern das Wachstum und/oder die Aktivität gesundheitsfördernder Darmbakterien und sind in der Regel durch Enzyme des Gastrointestinal-Traktes nicht verdaubare Kohlenhydrate.

Aus Cummings et al. (Am. J. Clin. Nutr. 73 (2001), 415-420) ist bekannt, dass Präbiotika längerkettige Kohlenhydrate sein können, beispielsweise Inulin oder Fructooligosaccharide. Kummel & Brokx (Cereal Foods World 46 (2001), 424-429) beschreiben in das Präbiotikum Lactit. Es sind aber auch längerkettige Kohlenhydrate bekannt,
20 die nicht das Wachstum von Bifidobakterien stimulieren. Dazu gehören höhermolekulare pflanzliche Hemicellulosen wie Xylan aus Lärchen, Weizen und Hafer oder Polysaccharide marinen Ursprungs wie Laminarin und Alginat. Genannte Polysaccharide werden vornehmlich von der Gattung *Bacteroides* verstoffwechselt.

Nicht alle als Präbiotika bekannte Saccharide dienen wiederum der
30 Butyratlieferung und wenn doch, dann nur in vorderen Dickdarmbe-

reichen. Bekannte Präbiotika wie Fructooligosaccharide, die den Dickdarm erreichen, werden dort recht schnell und vollständig fermentiert. Die hierbei gebildeten kurzkettigen Fettsäuren werden schnell und nahezu vollständig von den intestinalen Epithelzellen am Ort ihrer Entstehung resorbiert. Für eine Butyratlieferung in hintere Darmabschnitte ist es jedoch notwendig, dass die Saccharide langsamer fermentiert werden, damit auch Substrat in hinten liegende Darmbereiche gelangt und zur mikrobiellen Butyratbildung zur Verfügung steht. Eine sehr schnelle Fermentation bekannter Präbiotika kann unter anderem auch ein höheres Risiko für laxative Effekte und andere gastrointestinale Unpässlichkeiten bedeuten.

Weiter zeichnen sich bekannte Präbiotika wie Inulin und Oligofructose nachteilhaft auch dadurch aus, dass bei ihrem Abbau durch die intestinale Mikroflora überwiegend andere kurzkettige Fettsäuren, insbesondere Essigsäure gebildet werden und sie daher Buttersäuren nur in sehr geringem Umfang liefern. Die bekannten Präbiotika wie Fructooligosaccharide zeichnen sich nachteilhaft auch dadurch aus, dass ihre technologische Verarbeitbarkeit bei der Lebensmittelherstellung zum Teil zu wünschen übrig lässt. Mangelnde Wasserlöslichkeit, zum Beispiel bei längererkettigen Kohlenhydraten wie resistenter Stärke, ihre geringe Säurestabilität und ihre Reaktivität als teilweise reduzierende Oligosaccharide tragen zu ihrer beschränkten Anwendbarkeit bei. Dies gilt insbesondere bei der Anwendung in solchen Produkten, die einen niedrigen pH-Wert aufweisen. Die bekannten Präbiotika zeichnen sich nachteilhaft weiter dadurch aus, dass sie vergleichsweise schnell fermentiert werden und/oder nur zu geringer Bildung von Buttersäure führen und damit nur gering butyrogen sind.

Der vorliegenden Erfindung liegt daher das technische Problem zugrunde, Substanzen oder Substanzgemische bereitzustellen, die in Lebens-, Genuss-, Futter- und Arzneimitteln präbiotische Funktion übernehmen sowie gleichzeitig die Buttersäurebildung unterstützen

können und dabei die vorgenannten Nachteile überwinden, insbesondere bei möglichst guter technologischer Verarbeitbarkeit, vorteilhaften ernährungsphysiologischen Kenngrößen und guter Verträglichkeit als bifidogene Präbiotika wirken und als butyratlieferndes (butyrogenes) Substrat dienen.

Die vorliegende Erfindung löst das ihr zugrundeliegende technische Problem durch die Bereitstellung einer Verwendung von Mischungen aus 1,6-GPS und 1,1-GPM in Lebens-, Genuss-, Futter- und Arzneimitteln als Präbiotikum, insbesondere bifidogen wirkendes Präbiotikum und/oder als fermentierbares Substrat, insbesondere als butyratlieferndes und gleichzeitig langsamer fermentierbares Substrat, bei guter technologischer Verarbeitbarkeit.

Die vorliegende Erfindung beruht unter anderem darauf, dass die Mischung aus 1,6-GPS und 1,1-GPM, eingesetzt in Lebens-, Genuss-, Futter- und Arzneimitteln nach dem Verzehr im Gastrointestinaltrakt des menschlichen oder tierischen Konsumenten präbiotische, insbesondere bifidogene Aktivität aufweist und/oder als Substrat zur Buttersäurebildung dient.

Aus den Untersuchungen zu der erfindungsgemäß verwendeten Mischung ergab sich überraschend, dass ein Verzehr einer Mischung aus 1,6-GPS und 1,1-GPM zu einer Vermehrung von guten und der Gesundheit förderlichen Bakterien, insbesondere Bifidobakterien im Darmtrakt des Konsumenten führt, was sich beispielsweise durch eine Zunahme der Bifidobakterien in der Stuhlflora nachweisen lässt. Überdies zeichnet sich die die erfindungsgemäß verwendete Mischung dadurch aus, dass ein Verzehr bei dem Konsumenten auch zu einer Erhöhung des Anteils von Bifidobakterien an der Gesamtflora führt.

Weiterhin ging aus den Untersuchungen hervor, dass ein Verzehr der erfindungsgemäß verwendeten Mischung auch zu einer günsti-

gen Beeinflussung der Aktivität der Mikroflora, insbesondere durch die Senkung der Aktivität des bakteriellen Enzyms β -Glucosidase, das im Darm zur Bildung toxischer Verbindungen führt, beiträgt.

5 Als vorteilhaft erweist sich darüber hinaus, dass die erfindungsgemäß eingesetzte Mischung vom Menschen in größeren Mengen, beispielsweise von 30 g/d und mehr mit der täglichen Nahrung aufgenommen werden kann, ohne dass es zu gastrointestinalen Unannehmlichkeiten kommt.

10 Die bifidogene und präbiotische Wirkung der erfindungsgemäß verwendeten Mischung war insofern überraschend, da in älteren *in vitro*-Untersuchungen nahezu keine pH-Wert Absenkung durch Bifidobakterien-Stämme mit 1,6-GPS oder 1,1-GPM beobachtet wurde und dies zunächst nicht auf eine bifidogene oder präbiotische Eigenschaft von Isomalt hindeutete (Kashimura *et al.*, 1991).

15 Im Rahmen der vorliegenden Erfindung konnte hingegen jetzt gezeigt werden, dass Bifidobakterien mit Isomalt wachsen und dieses abbauen können und dabei kurzkettige Fettsäuren bilden. Es konnte ferner gezeigt werden, dass sich die erfindungsgemäß verwendete Mischung auch als bevorzugt einzige, Kohlenstoff- und Energiequelle
20 für Bifidobakterien eignet.

In diesem Zusammenhang wird unter „Bifidobakterien“ oder „Bifidusflora“ eine vornehmlich den Dickdarm besiedelnde Gattung grampositiver, unbeweglicher, sporenloser, und anaerober Stäbchenbakterien insbesondere der Spezies *B. adolescentis*, *B. bifidum*, *B. breve*,
25 *B. catenulatum*, *B. longum* und *B. infantis*, verstanden. Diese spalten Kohlenhydrate unter der Bildung von kurzkettigen organischen Säuren, insbesondere von Essigsäure (Acetat) und Milchsäure (Lactat). Dadurch wird der pH-Wert der Umgebung reduziert und eine Hemmung pathogener Bakterien wird möglich. Bifidobakterien
30 sind Bakterien, die als besonders wünschenswert für die menschli-

- che Gesundheit angesehen werden. Zu den günstigen Wirkungen der Bifidobakterien gehören die Unterdrückung pathogener Keime, die Verringerung der Ammoniak- und Lipidkonzentration im Blut, die Regeneration einer durch Antibiotika geschädigten Darmflora, die
- 5 Stimulation des Immunsystems und eine immunmodulatorische Wirkung, zum Beispiel auch zur Unterstützung der Abwehr maligner Zellen, und die Produktion von Vitaminen wie B-Vitamine und Folsäure. Bifidobakterien gelten als wichtige Träger der Kolonisationsresistenz gegenüber pathogenen Bakterien und als Antagonisten der Fäulnis-
- 10 flora. Sie tragen durch die fermentative Produktion kurzkettiger Fettsäuren im Dickdarm und Hemmstoffen zur Hemmung von Wachstum von schädlichen Bakterien und deren Aktivität, zum Beispiel durch Hemmung schädlicher bakterieller Enzyme wie der β -Glucosidase, bei. Durch Hemmung von pathogenen Bakterien besitzen Bifidobakterien
- 15 auch eine protektive und präventive Wirkung gegenüber Infektionen, insbesondere bakteriellen Darminfektionen. Durch die Produktion kurzkettiger Fettsäuren im Dickdarm tragen Bifidobakterien zur Nährstoffversorgung und Gesunderhaltung der Dickdarmschleimhaut bei.
- 20 Anders als beispielsweise Lactobacillen können Bifidobakterien aufgrund ihrer Luftsauerstoffempfindlichkeit nicht oder nur begrenzt in Lebensmitteln, also probiotischen Lebensmitteln, eingesetzt werden. Durch Kombination von probiotischen Kulturen und der erfindungsgemäß verwendeten Mischung als präbiotisch wirkende Substanz
- 25 kann ein verbessertes Überleben der lebenden Bakterien in synbiotischen Produkten erreicht werden, sowie die Stimulation sowohl von zugeführten als auch insbesondere von endogen vorhandenen positiven Bakterien wie Bifidobakterien im gesamten Darmtrakt.
- 30 Ferner konnte gezeigt werden, dass die erfindungsgemäß verwendete Mischung außerdem von humaner Darmflora langsamer fermentativ verstoffwechselt wird und dabei zu einer höheren Butyratproduktion führt als beispielsweise die bekannten präbiotischen Fructane.

Durch die langsamere Fermentation der erfindungsgemäß eingesetzten Mischung gegenüber bekannten präbiotischen Substraten und die gleichzeitig höhere Bildung von Buttersäure, gelangt die mit der Nahrung aufgenommene erfindungsgemäß verwendete Mischung in weit größerem Umfang auch in hintere Bereiche des Dickdarms und kann dort als Wirkstoff, beispielsweise zur Behandlung oder Verhinderung von Dickdarmerkrankungen dienen.

Die erfindungsgemäß eingesetzte Mischung zeichnet sich weiter durch eine überaus gute technologische Verarbeitbarkeit in Lebens-, Genuss und Futtermitteln aus, auch aufgrund ihrer Wasserlöslichkeit und Säurestabilität. Die Säurestabilität macht die erfindungsgemäße Verwendung insbesondere für Produkte geeignet, die einen niedrigen pH-Wert aufweisen.

Die erfindungsgemäße Verwendung der genannten Mischung zeichnet sich vorteilhaft auch dadurch aus, dass sie beim Menschen und bei Tieren verwendet werden kann zur Unterstützung und Stabilisierung einer gesunden Darmflora, zur Förderung eines gesunden Darmflorastoffwechsels, zur Erhaltung eines gesunden Darmepithels, zur Unterstützung der Darmgesundheit, zur Reduktion toxischer und schädigender Darminhalte, zur Prävention und Behandlung von chronisch entzündlichen Darmerkrankungen und/oder zur Prävention von Darmkrebs und anderen Erkrankungen des Darmepithels. Darüber hinaus kann die Mischung verwendet werden für die Verhinderung und Bekämpfung von Infektionserkrankungen, insbesondere auch bakteriellen Darminfektionen und Durchfallerkrankungen sowie zur Modulation und Unterstützung des Immunsystems, als Substanz mit Eigenschaften löslicher Ballaststoffe und/oder als Substanz mit präbiotischen Eigenschaften.

Diese positiven Effekte der erfindungsgemäßen Verwendung der eingesetzten Mischung auf die Gesundheit von Menschen und Tieren sind auch auf die Erhöhung der Quantität und des Anteils der

Laktobakterien, insbesondere Bifidobakterien in bzw. an der Darmflora, die Hemmung schädlicher bakterieller Enzyme wie der β -Glucosidase und/oder die langsamere Fermentation und gleichzeitig hohe Buttersäurebildung durch die Darmflora zurückzuführen.

- 5 In vorteilhafter Weise gelangt die bei der erfindungsgemäßen Verwendung eingesetzte Mischung in den Dickdarm, wo sie dann als Substrat für die dort vorhandenen Mikroorganismen wie Laktobakterien, insbesondere Bifidobakterien dient und zu kurzkettigen Fettsäuren fermentiert wird. Dabei kommt es zu einer Stimulation der Bifido-
- 10 bakterien, und einer Zunahme sowohl der Anzahl der Bifidobakterien als auch des Anteils der Bifidobakterien an der Gesamtf flora, und damit einer Verschiebung der Flora hin zu einer Bifidusflora. Durch die von den Bifidobakterien produzierten kurzkettigen Fettsäuren sowie durch Hemmstoffe kommt es zu einer Hemmung der schädlichen Bakterien und deren Aktivität, was insbesondere auch die Reduktion der Aktivität der mikrobiellen β -Glucosidase zeigt, die toxische und kanzerogene Verbindungen freisetzt. Die erfindungsgemä-
- 15 ße Mischung weist daher bifidogene und präbiotische Eigenschaften auf. Das erfindungsgemäße Isomalt wird darüber hinaus von der menschlichen Darmflora vergleichsweise langsam fermentiert und fördert die saccharolytische Mikroflora. Hohe Buttersäurekonzentrationen im Dickdarm unterstützen ein gesundes Darmmilieu, verbessern Symptome von ulzerativen Entzündungen des Kolons und sind protektiv in der Kolonkarzinogenese. Buttersäure dient als Wach-
- 20 tumsfaktor für ein gesundes Darmepithel und als Substrat für die Kolonzellen und wirkt unter anderem somit der Entstehung und dem Wachstum von Kolonkarzinomen entgegen. Buttersäure trägt zur Entgiftung möglicher mutagener Stoffwechselprodukte im Dickdarm bei und wirkt dem oxidativen Stress entgegen, beispielsweise über
- 25 die Induktion protektiver Proteine wie der intestinalen Glutathion-S-Transferase oder der Hemmung der Ornithindecaboxylase. Ein gesundes Darmmilieu verhindert negative Auswirkungen wie Diarrhoe,
- 30

Verstopfung, Entzündungen und die Passage von unerwünschten Substanzen und Bakterien aus dem Darmlumen in den Körper.

Die erfindungsgemäße Verwendung der eingesetzten Mischung wirkt positiv auf die Gesundheit von Menschen und Tieren insbesondere durch die Erhöhung der Quantität und des Anteils der Lactobakterien, insbesondere Bifidobakterien in bzw. an der Darmflora, sowie die langsamere Fermentation und gleichzeitig hohe Buttersäurebildung durch die saccharolytische Darmflora. Die erfindungsgemäße Verwendung der eingesetzten Mischung dient beim Menschen zur Unterstützung und Stabilisierung einer gesunden Darmflora, zur Förderung eines gesunden Darmflorastoffwechsels, zum Erhalt eines gesunden Darmepithels, zum Erhalt der Darmgesundheit, zur Reduktion toxischer und schädigender Darminhalte, zur Reduktion von oxidativem Stress, Prävention und Behandlung von chronisch entzündlichen Darmerkrankungen, Prävention von Darmkrebs, insbesondere von Dickdarmkrebs auch in hinteren Darmbereichen und anderen Erkrankungen des Darmepithels. Darüber hinaus dient die Mischung der Verhinderung und Bekämpfung von Infektionserkrankungen, insbesondere auch bakterielle Darminfektionen sowie zur Modulation und Unterstützung des Immunsystems.

Im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung wird unter einem „Präbiotikum“ ein Nahrungs-, Genuss-, Futter- oder Arzneimittelbestandteil verstanden, das selektiv das Wachstum und/oder die Aktivität spezifischer Bakterien im menschlichen oder tierischen Verdauungstrakt, insbesondere Bifidobakterien und/oder Lactobacillen so stimuliert, dass gesundheitsfördernde Effekte zu erwarten sind. Präbiotika sind in der Regel nicht oder nur schwer verdaulich.

Im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung wird unter einem „Probiotikum“ ein lebender mikrobieller Bestandteil eines Lebens-, Genuss-, Futter- oder Arzneimittels verstanden, der durch Stabilisierung oder Verbesserung der mikrobiellen Zusammensetzung im Ver-

dauungstrakt des menschlichen oder tierischen Konsumenten dessen Gesundheit fördert. Derartige probiotische Mikroorganismen, die in Lebens-, Arznei- oder Futtermitteln eingesetzt werden können, sind zum Beispiel: Bifidobacterium wie die Stämme *B. adolescentis*,
5 *B. animalis*, *B. bifidum*, *B. longum*, *B. thermophilum*; *Enterococcus*; *Lactobacillus* wie die Stämme *Lb. acidophilus*, *Lb. brevis*, *Lb. casei*, *Lb. cellobiosus*, *Lb. crispatus*, *Lb. delbrueckii subsp. Bulgaricus*, *Lb. fermentum*, *Lb. GG*, *Lb. johnsonii*, *Lb. lactis*, *Lb. plantarum*, *Lb. reuteri*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. salivarius*; *Bacillus cereus toyoi*; *Bacillus cereus*;
10 *Leuconostoc*; *Pediococcus acidilactici*; *Propionibacterium*; *Streptococcus* wie die Stämme *S. cremoris*, *S. infantarius*, *S. intermedius*, *S. lactis*, *S. salivarius subsp. thermophilus* (vergleiche Fuller, J. Appl. Bacteriol. (1989)). Bevorzugte Probiotika sind Bakterien der Gattungen *Lactobacillus* und *Bifidobacterium*.

15 Im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung wird unter „Synbiotikum“ ein Gemisch aus mindestens einem Präbiotikum und mindestens einem Probiotikum verstanden, das durch Verbesserung der Überlebensrate und Erhöhung der Anzahl gesundheitsfördernder lebender mikrobieller Organismen im Gastrointestinal-Trakt die Ge-
20 sundheit des menschlichen oder tierischen Konsumenten fördert, insbesondere durch selektive Stimulierung des Wachstums und/oder der Stoffwechsel-Aktivität der mikrobiellen Organismen.

Unter „Nahrungsmittel“ beziehungsweise „Futtermittel“ werden vorwiegend der menschlichen oder tierischen Ernährung dienende Stoffe oder Stoffgemische in fester, flüssiger, gelöster oder suspendierter Form verstanden. Unter einem Genussmittel werden vorwiegend dem beim Verzehr auftretenden Genuss des menschlichen oder tierischen Körpers dienende Stoffe oder Stoffgemische in fester, flüssiger, gelöster oder suspendierter Form verstanden. Unter einem Arzneimittel werden vorwiegend der Prophylaxe oder Therapie von
25 Krankheiten, Störungen, Verletzungen oder Alterserscheinungen des menschlichen oder tierischen Körpers dienende Stoffe oder Stoff-
30

gemische in fester, flüssiger, gelöster oder suspendierter Form verstanden.

Im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung wird unter „Krankheit“ oder „Erkrankung“ eine Störung der Lebensvorgänge und/oder Mangelzustände in Organen oder im gesamten Organismus verstanden, die eine subjektiv empfundene und/oder eine objektiv feststellbare physische und/oder psychische Veränderung mit sich bringt.

Im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung wird unter „Wirkstoff“ eine Substanz verstanden, die in lebenden Organismen oder Teilen davon eine biologische Wirkung hervorrufen kann. Dabei kann dieser Wirkstoff insbesondere zur Vorbeugung, Linderung, Heilung oder Diagnose einer Krankheit dienen. Unter einem „therapeutischen Wirkstoff“ wird ein Stoff verstanden, der der Vorbeugung oder Prophylaxe, Linderung oder Heilung einer Krankheit dient.

Im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung wird unter „Arzneimittel“ eine zur Anwendung bei Menschen oder Tieren bestimmte Zubereitungsform von Wirkstoffen verstanden.

Die Erfindung betrifft in einer bevorzugten Ausführungsform eine Verwendung, wobei in dieser Verwendung die Mischung aus 1,6-GPS und 1,1-GPM Isomalt ist. Im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung wird unter Isomalt, das auch als Palatinit bezeichnete Gemisch aus 1,6-GPS und 1,1-GPM verstanden, zum Beispiel ein Gemisch welches 43 bis 57 Gew.-% 1,6-GPS und 57 bis 43 Gew.-% 1,1-GPM, bezogen auf die Trockensubstanz der Mischung enthält.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung besteht die erfindungsgemäß eingesetzte Mischung aus 1,6-GPS und 1,1-GPM, besteht im Wesentlichen daraus oder enthält diese. Die Mischung ist vorzugsweise ein 1,6-GPS-angereichertes oder ein 1,1-GPM-angereichertes Gemisch oder enthält dieses, so

wie es in der DE 195 32 396 C2 beschrieben ist, die hinsichtlich der Herstellung und Zusammensetzung der 1,6-GPS- und 1,1-GPM-angereicherten Gemische vollständig in den Offenbarungsgehalt der vorliegenden Lehre mit einbezogen ist.

- 5 In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung liegt die erfindungsgemäß in einem Lebens-, Genuss-, Futter- oder Arzneimittel eingesetzte Mischung aus 1,6-GPS und 1,1-GPM als einziges Präbiotikum und/oder als einziges butyrogenes Substrat und/oder als einziges Süßungsmittel in dem Lebens-, Ge-
10 nuss-, Futter- oder Arzneimittel vor. Selbstverständlich ist jedoch auch vorgesehen, dass die Mischung aus 1,6-GPS und 1,1-GPM weitere Substanzen oder Substanzgemische enthält, zum Beispiel 1,1-GPS (1-O- α -D-Glucopyranosyl-D-sorbit). Das erfindungsgemäß eingesetzte Gemisch kann neben 1,6-GPS und 1,1-GPM auch Man-
15 nit, Sorbit, hydrierte oder nicht-hydrierte Oligosaccharide enthalten.

- In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist vorgesehen, dass die erfindungsgemäß als Präbiotikum und/oder als butyrogenes Substrat eingesetzte Mischung aus 1,6-GPS und 1,1-GPM in den Zielprodukten, also den Lebens-, Genuss-, Futter- oder Arzneimit-
20 teln, zusammen mit mindestens einem weiteren löslichen und/oder mindestens einem unlöslichen, fermentierbaren oder nichtfermentierbaren Ballaststoff und/oder nichtverdaulichen Kohlenhydrat eingesetzt wird.

- Als lösliche und/oder unlösliche Ballaststoffe sind beispielsweise
25 vorgesehen: Polydextrose; Fructooligosaccharide mit kurzen und langen Saccharidketten, zum Beispiel $\beta(2\rightarrow1)$ Fructane, zum Beispiel aus der Extraktion aus Chicoree-Wurzel sowie möglicher anschließender partieller Hydrolyse, oder aus Transfructosylierung von Saccharose; Galacto-Oligosaccharide und transgalactosylierte Oligosac-
30 charide, zum Beispiel durch Transgalactosylierung von Lactose wie 6' Galactosyllactose (mit *Aspergillus oryzae* β -Galactosidase) oder 4'

Galactosyllactose (mit *Cryptococcus laurentii* oder *Bacillus circulans* β -Galactosidase); partiell hydrolysiertes Guargum, wie „Sunfibre“ oder „Benefibre“; Lactulose; Lactit; Maltit; Sorbit; Mannit; Xylit; Erythrit; hydrierte Stärkehydrolysate; Xylo-Oligosaccharide, zum Beispiel mit $\beta(1\rightarrow4)$ verknüpften Xylose-Einheiten, zum Beispiel aus der enzymatischen Hydrolyse von Xylan; Xylo-Gold von Meneba oder Xyloarabane; Lactosaccharose; Malto-Oligosaccharide, wie „Fibersol-2“ von Matsutani, und Isomalto-Oligosaccharide, wie von Showa Sangyoi, zum Beispiel aus der Transgalactosylierung von Maltose; zum Beispiel mit $\alpha(1\rightarrow4)$ -Glucose verknüpft über $\alpha(1\rightarrow6)$ -Glucose; Gentio-Oligosaccharide, zum Beispiel Oligosaccharide mit $\beta(1\rightarrow6)$ -Verknüpfungen; Pyrodextrin, zum Beispiel aus der Pyrolyse von Mais- oder Kartoffelstärke; Glucosylsaccharose, wie „Coupling sugar“ von Hayashibara; Sojabohnen-Oligosaccharide, wie Mischungen aus Raffinose (Gal-Glc-Frc) und Stachyose (Gal-Gal-Glc-Frc) aus der Extraktion von Sojabohnen-Molke; Chito-Oligosaccharide oder Chitosan-Oligosaccharide; Di- und Oligosaccharide aus Honig, Pektine und aus Pektinen, auch durch partielle Hydrolyse, gewonnene Oligosaccharide; kondensierte Oligosaccharide, zum Beispiel aus der Kondensation von Sacchariden, auch durch enzymatische Modifikation und Hydrierung modifizierte Saccharide; durch Karamelisierung von Sacchariden erhaltene Di- und Oligosaccharide; Galactomannan-Oligosaccharide, Kohlenhydrate mit anderen Monosacchariden; Kohlenhydrate mit anderen Monosacchariden, Di- und Oligosaccharide zum Beispiel auch durch partielle Hydrolyse oder Oxidation oder andere Modifikation von Di- und Oligosacchariden erhalten. Erfindungsgemäß bevorzugt wird mindestens ein Ballaststoff und/oder unverdauliches Kohlenhydrat verwendet, welcher ein Fructo-Oligosaccharid, Polydextrose, Inulin, ein Galacto-Oligosaccharid, Lactulose, Lactit, ein Xylo-Oligosaccharid, Lacto-Saccharose, ein Malto-Oligosaccharid, ein Isomalto-Oligosaccharid, ein Gentio-Oligosaccharid, Glucosylsaccharose, ein Sojabohnen-Oligosaccharid, ein Chito-Oligosaccharid, ein Chitosan-Oligosaccharid, ein Pektin, ein kondensiertes Oligosaccharid, ein Karamelprodukt, ein

Galactomannan-Oligosaccharid, ein Fucose-haltiges Oligosaccharid, ein Fucosederivate-haltiges Oligosaccharid, modifizierte Stärke, partiell hydrolysiertes Guar Gummi, Maltit, Sorbit, Mannit, Xylit, Erythrit, hydriertes Stärkehydrolysat, Pyrodextrin oder eine durch partielle Hydrolyse, Hydrierung, Oxidation, enzymatische, chemische oder andere Modifikation von Sacchariden erhaltene Variante ist. Resistente Stärke wie „Neo-Amylose“ oder „Actistar“, Faserstoffe aus Hafer, Weizen, Gemüse, zum Beispiel Tomate oder Erbse, Früchten, zum Beispiel Apfel, verschiedene Beeren, Früchte des Carob-Baums, Faserstoffe aus Zuckerrübe, wie „Fibrex“ von Danisco, aus Früchten des Johannisbrotbaums, wie „Caromax“ von Nutrinova, oder Cellulose oder Vitacel von Rethenmaier.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung enthält die erfindungsgemäß eingesetzte Mischung aus 1,6-GPS und 1,1-GPM, gegebenenfalls in Mischung mit einem der vorgenannten Ballaststoffe, insbesondere Stoffe mit präbiotischer und/oder butyrogener Wirkung zusätzlich mindestens ein Probiotikum, beispielsweise Bakterien der Gattung *Lactobacillus* und/oder *Bifidobacterium*, zum Beispiel *Bacillus cereus toyoi*; *Bacillus cereus*; *Bifidobacterium* wie die Stämme: *B. adolescentis*, *B. animalis*, *B. bifidum*, *B. longum*, *B. thermophilum*; *Enterococcus*; *Lactobacillus* wie die Stämme *Lb. acidophilus*, *Lb. brevis*, *Lb. casei*, *Lb. cellobiosus*, *Lb. crispatus*, *Lb. delbrueckii subsp. Bulgaricus*, *Lb. fermentum*, *Lb. GG*, *Lb. johnsonii*, *Lb. lactis*, *Lb. plantarum*, *Lb. reuteri*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. salivarius*; *Leuconostoc*; *Pediococcus acidilactici*; *Propionibacterium*; *Streptococcus* wie die Stämme *S. cremoris*, *S. infantarius*, *S. intermedius*, *S. lactis*, *S. salivarius subsp. thermophilus* (vergleiche Fuller, J. Appl. Bacteriol. (1989)), insbesondere Bakterien der Gattung *Lactobacillus* und/oder *Bifidobacterium*.

Erfindungsgemäß wird die Mischung aus 1,6-GPS und 1,1-GPM daher in besonders bevorzugter Ausführungsform als Bestandteil eines Synbiotikums eingesetzt. Durch die erfindungsgemäß vorgesehene

Kombination eines Probiotikums und der erfindungsgemäß eingesetzten Mischung, insbesondere Isomalt, als Präbiotikum, kann vorteilhafterweise ein besseres Überleben der probiotischen Bakterien während der Passage des oberen Magen-Darmtraktes und eine verbesserte Erfolgsrate bei der Ansiedlung der probiotischen Bakterien im Darmtrakt, insbesondere Dickdarm, erzielt werden. Überdies wird durch die präbiotisch wirkende erfindungsgemäß eingesetzte Mischung das Wachstum und die Aktivität sowohl der exogen zugeführten probiotischen als auch der endogen vorhandenen Bakterien, insbesondere Bifidobakterien, gesteigert.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird die erfindungsgemäß in einem Lebens-, Genuss-, Futter- oder Arzneimittel eingesetzte Mischung aus 1,6-GPS und 1,1-GPM bevorzugt als Präbiotikum, insbesondere bifidogenes Präbiotikum und/oder als butyrogenes, langsam fermentierbares Substrat verwendet. Überdies wird durch die butyrogene und langsamer fermentierte erfindungsgemäß eingesetzte Mischung, insbesondere Isomalt eine höhere Konzentration von Buttersäure (Butyrat) durch Aktivierung von saccharolytischen Bakterien im Dickdarm erhalten.

Selbstverständlich kann diese Mischung weitere Zusatz- und Hilfsstoffe wie Konservierungs-, Farb-, Geschmacks-, Aromastoffe, lebensmittelverträgliche Säuren, Intensiv-Süßstoffe, Emulgatoren, Gleit- und Trennmittel, arzneilich wirkende Substanzen, Vitamine, Coenzyme, Mineralstoffe oder Spurenelemente enthalten.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird die erfindungsgemäß eingesetzte Mischung eingesetzt in Lebensmitteln wie Milcherzeugnissen und Milchprodukten, wie Käse-, Butter-, Joghurt-, Trinkjoghurt-, Kefir-, Quark-, Sauer-
milch-, Buttermilch-, Sahne-, Kondensmilch-, Trockenmilch-, Molken-
-, Milchzucker-, Milcheiweiß-, Milchmisch-, Milchhalbfett-, Molken-
misch-, oder Milchfett-Produkten oder -Zubereitungen; Backwaren,

- insbesondere Brot, Brötchen, Croissants einschließlich Kleingebäck oder feine Backwaren einschließlich Dauerbackwaren, Keksprodukte oder Waffeln; Brotaufstrichen, Margarine-Erzeugnissen oder Backfetten; Instantprodukten und Brüherzeugnissen; Obstprodukte oder
- 5 Obstzubereitungen wie Konfitüren, Marmeladen, Gelees, Gelierzucker, Obstkonserven, Fruchtpulpen, Fruchtmark, Fruchtsäften, Fruchtkonzentraten, Fruchtnektar oder Fruchtpulver; Gemüseerzeugnisse oder -zubereitungen wie Gemüsekonserven, Gemüsesäfte oder Gemüsemark; Gewürzmischungen; Müsli oder Müsli-
- 10 Mischungen, sowie fertig zubereitete Müsli enthaltende Produkte; nicht-alkoholischen Getränke, wie Sportlergetränken und Limonaden, Getränkegrundstoffen und Getränkepulver; Süßwaren wie Schokolade, Hartkaramellen, Weichkaramellen, Kaugummi, Dragees, Fondant-Erzeugnissen, Gelee-Erzeugnissen, Lakritzen,
- 15 Schaumzuckerwaren, Flocken, Dragees, Komprimaten, kandierten Früchten, Krokant, Nougat-Erzeugnissen, Eiskonfekt, Marzipan, Müsliriegeln, sowie Speiseeis oder alkoholischen und nicht-alkoholischen Süßgetränken etc. und/oder enterale Ernährungsformen.
- 20 Ein weiterer bevorzugter Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist die Verwendung der erfindungsgemäß eingesetzten Mischung als Wirkstoff, insbesondere als therapeutischer Wirkstoff, insbesondere in Arzneimitteln, arzneimittelähnlichen Zubereitungen, Nahrungs-, Lebens-, und/oder Genussmitteln sowie als Zusatz in Tierfuttermitteln zur Behandlung von Erkrankungen. Insbesondere sind dies
- 25 pharmazeutische Zusammensetzungen, ein Arzneimittel das das erfindungsgemäße Isomalt enthält, sowie die Verwendung des erfindungsgemäßen Isomalt zur Herstellung solcher Arzneimittel. In einer Variante wird die erfindungsgemäß eingesetzte Mischung als Wirk-
- 30 stoff zur Behandlung von Darmerkrankungen verwendet.

In weiteren Varianten der Erfindung wird die erfindungsgemäß eingesetzte Mischung als Wirkstoff zur Wiederherstellung und Stabili-

sierung einer gesunden Darmflora, zur Wiederherstellung und/oder Förderung eines gesunden Darmflorastoffwechsels, zur Wiederherstellung und/oder Förderung eines gesunden Darmepithels, zur Wiederherstellung und/oder Förderung der Darmgesundheit, zur Reduktion von oxidativem Stress, zur Reduktion toxischer und schädigender Darminhalte, zur Verhinderung und/oder Behandlung von chronisch entzündlichen Darmerkrankungen, zur Prophylaxe von Darmkrebs, insbesondere Dickdarmkrebs, zur Prophylaxe von Infektionskrankungen, zur Prophylaxe von bakteriellen Darminfektionen und/oder zur Modulation und Stärkung des Immunsystems verwendet.

Darüber hinaus wird die erfindungsgemäß eingesetzte Mischung insbesondere auch in Tierfuttermitteln, sowohl im Kleintier- als auch im Großviehbereich, eingesetzt.

Die Erfindung betrifft auch die Verwendung der erfindungsgemäß eingesetzten Mischung als Wirkstoff, gegebenenfalls zusammen mit mindestens einem der vorstehend erwähnten Zusatz- und Hilfsstoffe, wie weiteren Präbiotika oder unverdaulichen Kohlenhydraten, insbesondere Ballaststoffen oder Stoffen mit ballaststoffartiger Wirkung, oder Probiotika, in einem Arzneimittel oder zur Herstellung eines Arzneimittels zur Bekämpfung und/oder Prophylaxe von Krankheitszuständen, Störungen, Verletzungen oder Alterserscheinungen, insbesondere auch Erkrankungen und Störungen des Magen-Darmtraktes, des menschlichen oder tierischen Körpers.

Die erfindungsgemäß eingesetzte Mischung wird allein oder bevorzugt mit anderen Substanzen zusammen in den Lebens-, Genuss-, Futter- oder Arzneimitteln in fester, zum Beispiel kristalliner aber auch amorpher, gemahlener oder flüssiger, insbesondere suspensierter oder gelöster Form eingesetzt. Als Suspensions- oder Lösungsmittel kommen nahrungsmittelverträgliche Lösemittel in Betracht, insbesondere Wasser, Alkohole sowie Mischungen daraus.

Weitere vorteilhafte Ausgestaltungen der vorliegenden Erfindung ergeben sich aus den Unteransprüchen.

Die Erfindung wird anhand der folgenden Beispiele und dazugehöriger Figuren näher erläutert.

- 5 Die Figur 1 zeigt den Vergleich der Gesamtaktivität mikrobieller β -Glucosidase in Stuhlproben von Probanden mit Isomaltverzehr oder mit Placeboverzehr.
- 10 Die Figur 2 zeigt Abbauraten von Fructooligosacchariden (FOS) und Isomalt bei der *in vitro*-Fermentation mit humanen Darmbakterien.
- Die Figur 3 stellt in Form eines Histogramms die Bildung von Butyrat bei der *in vitro*-Fermentation von Isomalt und FOS dar.
- 15 Beispiel 1: Isomalt-Wirkung auf den Menschen

Zum Nachweis der fermentativen Effekte von Isomalt auf das Darmmilieu beim Menschen und der Beeinflussung der humanen intestinalen Mikroflora durch Isomaltverzehr wurde mit einem Kollektiv aus 20 gesunden Probanden eine humane Interventionsstudie in einem doppelblinden, placebokontrollierten Crossover-Design durchgeführt. Jeder der Probanden erhielt dazu in den zwei 4-wöchigen Testphasen jeweils entweder 30 g/Tag Isomalt als Verum oder Saccharose als Placebo. Während der beiden Testphasen erhielten die Probanden eine standardisierte Basiskost. Die Testsubstanzen wurden mehrmals täglich in Form von Gebäck, Konfitüre, Schokolade und anderen Speisen eingenommen. Die Probanden erhielten die Verzehrmenge von 30 g Isomalt oder 30 g Placebo in Lebensmitteln innerhalb von zwei täglich abwechselnden Menüplänen. Durch eine

identische Basiskost in beiden Perioden konnte der Einfluss anderer Ernährungsfaktoren ausgeschlossen werden.

Es wurden verschiedene Süß- und Backwaren mit Isomalt und Zucker hergestellt:

5

		Zuckermenge pro Tag	Isomaltmenge pro Tag
Menü 1	30 g Konfitüre	7,8 g	7,8 g
	30 g Konfitüre in Joghurt oder Quark	7,8 g	7,8 g
	41 g Mürbekekse Kekse	11 g	11 g
	3 Hartkaramellen (ca. 5,6 g)	5,4 g	5,4 g
	Summe	32 g	32 g
Menü 2	30 g Konfitüre	7,8 g	7,8 g
	100 g Pudding	6,9 g	10 g
	1 Riegel Schokolade + 1 Hartkaramelle (1,85 g)	6,7 g + 1,8 g = 8,5 g	6,2 g + 1,8 g = 8 g
	3 Hartkaramellen (ca. 5,6 g)	5,4 g	5,4 g
	Summe	28,6 g	31,2 g

Am Ende beider Testphasen wurde quantitativ der Stuhl gesammelt und ausgehend von den erhaltenen Stuhlproben die qualitative und quantitative Zusammensetzung der Stuhlflora und hiermit auch die Veränderung einzelner Bakterienspezies in Relation zur Gesamtflora mikrobiologisch bestimmt. Für jeden Probanden wurde die mikrobielle Stuhlflora ohne Verzehr von Isomalt mit der Stuhlflora bei einem Verzehr von Isomalt verglichen. Somit konnten Unterschiede und Veränderungen durch einen Isomaltverzehr bei jedem Individuum erfasst werden.

Die Analytik der mikrobiellen Stuhlflora erfolgte zum einen mit klassischer mikrobiologischer Diagnostik in der Bakteriologie durch die

Verwendung selektiver Nährmedien. Zum anderen erfolgte eine hier-von unabhängige Analytik mittels Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH), einer molekularbiologischen Methodik mit Fluoreszenz-markierten und Bakterien-Cluster-spezifischen RNA-Sonden.

5 *Mikrobiologische Analyse mittels Nährbodentechnik:*

In den bakteriologischen Untersuchungen der Stuhlproben wurde auf verschiedene Bakterienspezies untersucht, u.a. Bifidobakterien und *Bacteroides* und *Lactobacillus*.

10 Die Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen mittels Nähr-bodentechnik sind in der folgenden Tab.1 dargestellt.

Tabelle 1: Vergleich der Bakterienzahlen in humanen Stuhlproben nach Verzehr von 30 g/Tag Isomalt oder Placebo über vier Wochen.

Anzahl an	Isomalt	Placebo
Bifidobakterien	30 (0,1-250)***	22,5 (0,1-65)
Lactobacillen	0,0004 (0,0001-0,02)***	0,0003 (0,0001-0,04)
Bacteroides	32,5 (7-300)***	19 (7-325)

15 Die Anzahl der Bakterien mittels Nährbodentechnik ist angegeben als Median (Min-Max) in cfu (Keimbildende Einheiten = Bakterien-zahl) x 10⁸ pro g Faeces; Signifikanzniveau: ***p ≤ 0,01

20 Die bifidogene Wirkung von Isomalt wurde aus dem Vergleich der Bifidobakterien in Stuhlproben für alle Probanden der Studie ohne Isomaltverzehr gegenüber Stuhlproben bei Isomaltverzehr festge-stellt.

Die Ergebnisse aus den mikrobiologischen Stuhluntersuchungen zeigen für die anaerobe Indikatorflora, dass mit Isomaltverzehr signifikant mehr Bifidobakterien in Stuhlproben vorhanden waren.

Durchschnittlich war die Anzahl der Bifidobakterien in Stuhlproben mit Isomaltverzehr pro Tag mehr als doppelt so hoch.

Mikrobiologische Analyse mit FISH:

- 5 Es wurden für die 16S-RNA spezifische und fluoreszenzmarkierte Sonden zum Nachweis von Bifidobakterien sowie der Gesamtkeimzahl (*Eubacterium* Cluster) in Stuhlproben mittels FISH-Methode eingesetzt (Kleessen *et al.* (2001), Br. J. Nutr. 86, 291-300; Schwiertz *et al.* (2000), Appl. Environ. Microbiol. 66, 375-381).

Die Ergebnisse aus der FISH-Analytik sind in Tabelle 2 dargestellt.

- 10 Tabelle 2: Anzahl der Bifidobakterien und Anteil der Bifidobakterien an Gesamtbakterien in humanen Stuhlproben nach Verzehr von 30 g/Tag Isomalt oder Placebo über vier Wochen.

	Isomalt	Placebo
Bifidobakterien [cfu x 10 ¹¹ pro Tag]	10,3 (0,5-42,3)*	6,9 (2,8-18,9)
Anteil der Bifidobakterien an Gesamtkeimzahl	9 % (0,2-35)**	7 % (2-14)

- 15 Die Anzahl der Bakterien ist angegeben als Median (Min-Max) in cfu (Keimbildende Einheiten = Bakterienzahl) x 10¹¹; Signifikanzniveau: *p ≤ 0,05; **p ≤ 0,02

- 20 Die Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung der Stuhlproben mittels FISH-Technik ergab signifikant mehr Bifidobakterien in Stuhlproben pro Tag mit Isomaltverzehr gegenüber Placebo (10,3 vs 6,9 x 10¹¹ Bifidobakterien; p ≤ 0,05). Der Anteil von Bifidobakterien an Gesamtbakterien in Stuhlproben war mit Isomalt um rund 30% höher.

In den mikrobiologischen Untersuchungen wurde festgestellt, dass ein Verzehr Isomalt-haltiger Produkte zu einem signifikanten Anstieg der Anzahl an Bifidobakterien in Stuhlproben sowie des Anteils der Bifidobakterien an der Gesamtflora führt. Insgesamt wurde in den
5 Untersuchungen eine Stimulierung des Wachstums von Bifidobakterien mit Isomaltverzehr festgestellt.

Diese Ergebnisse zur Steigerung der Bifidobakterien zeigen eine Verbesserung des intestinalen Milieus mit einem besonders positiven Profil der Mikroflora durch einen Isomaltverzehr und belegen
10 damit die präbiotischen Eigenschaften von Isomalt.

Beispiel 2: Wirkung von Isomalt auf die Aktivität des mikrobiellen Enzyms β -Glucosidase

Zum Nachweis der Effekte von Isomalt auf das Darmmilieu und die Beeinflussung der intestinalen Mikroflora und deren Aktivität beim
15 Menschen wurde im Rahmen der in Beispiel 1 dargestellten Interventionsstudie am Ende der zwei 4-wöchigen Testphasen die Aktivität der mikrobiellen β -Glucosidase in Stuhlproben bestimmt. Der Nachweis der β -Glucosidase in Stuhlproben erfolgte mittels eines Tests zur Spaltung von p-Nitrophenyl- β -D-glucopyranosid unter Freisetzung von p-Nitrophenol. Das Reaktionsgemisch aus 1500 μ l Puffer, 400 μ l Substrat (0,01 mol/l) und der Stuhlprobe wurde 1 h bei
20 37°C inkubiert, nach 60 min wurde 1 ml Stoppreagenz (Glycinpuffer 0,1 mol/l pH 12,0) dazugegeben und die Intensität der resultierenden Gelbfärbung bei einer Wellenlänge von 405 nm photometrisch bestimmt. Die Intensität ist proportional zur Aktivität des Enzyms. Die
25 Aktivität des Enzyms wird angegeben als freigesetztes Produkt [μ mol] pro Einwaage [g] pro Zeiteinheit [h].

Wie in Figur 1 dargestellt kommt es mit Isomaltverzehr zu einer signifikanten Reduktion der Gesamtaktivität der mikrobiellen β -Glucosidase in Stuhlproben. Durch Isomalt wurde die durchschnittli-
30

che tägliche Gesamtaktivität der β -Glucosidase um 40,3 % reduziert. Die Reduktion der mikrobiellen β -Glucosidase zeigt, dass durch Isomalt eine Hemmung der schädlichen Mikroorganismen und/oder eine Hemmung deren Aktivität erhalten wird. Da für die mikrobielle β -Glucosidase die Freisetzung potentiell karzinogener und toxischer Aglycone diskutiert wird, wird dies als protektiver Effekt für eine Gesunderhaltung des Darms und der Darmfunktion angesehen.

Diese Ergebnisse zeigen eine Verbesserung des intestinalen Milieus mit einem besonders positiven Profil der Mikroflora durch Isomalt und belegen die präbiotischen Eigenschaften von Isomalt.

Beispiel 3: Abbau von Isomalt durch Bifidobakterien

Es wurden in vitro-Untersuchungen mit Reinkulturen Bifidobakterien durchgeführt.

Zur Untersuchung des Wachstums von humanen Bifidobakterien, wurden verschiedene Stämme humaner Bifidobakterien (siehe unten) zunächst auf folgendem Medium angezogen:

	Caseinpepton	10 g
	Fleischextrakt	5 g
	Hefeextrakt	5 g
20	Na ₂ HPO ₄	1,44 g
	NaH ₂ PO ₄	0,24 g
	K ₂ HPO ₄	6,0 g
	Tween 80	1,0 g
	Cystein/HCl	0,5 g
25	Spurenelementelösung nach	
	DSM-Medium 141	9 ml
	Vitaminlösung nach	
	DSM-Medium 141	0,5 ml
	Resazurin	1 mg

Glucose 10 g
H₂O ad 1000 ml, pH 7,0

Die einzelnen Stämme wurden für 48 h bei 37°C in Hungateröhrchen unter anaeroben Bedingungen unter einer Atmosphäre aus 80 %/20 % N₂/CO₂ bebrütet und danach nochmals auf das gleiche Nährmedium überimpft. Anschließend wurden die Kulturen auf Hungateröhrchen mit identischem Medium überimpft, welches als einziges Substrat Isomalt enthielt. Nach 48 h Inkubationszeit bei 37°C erfolgte ein zweiter Transfer auf das gleiche Medium mit Isomalt.

10 Von den Kulturen wurden durch 15 min Zentrifugation bei 8000 x g zellfreie Überstände hergestellt. Folgende Parameter wurden untersucht: Restgehalt Isomalt, optische Dichte (OD₅₇₈), Lactat, Acetat.

15 In Tabelle 3 sind die Ergebnisse des Isomaltabbaus, Wachstums anhand der Zunahme der optischen Dichte, sowie der Bildung von Lactat und Acetat aufgeführt.

Tabelle 3: Untersuchung der Stoffwechselaktivität diverser humaner Bifidobakterien mit Isomalt

Spezies	DSM-Nr.	Acetat [mmol/l]	Lactat [mmol/l]	Rest- gehalt Isomalt [%]	optische Dichte E ₅₇₈ nm
<i>B. adolescentis</i>	20083	47,9	23,7	19,7	1,94
	20086	35,7	27,6	5,5	1,75
	20087	45,9	20,5	23,5	2,50
<i>B. angulatum</i>	20098	46,5	9,9	29	2,51
	20225	35,4	4,4	49,7	2,43
<i>B. breve</i>	20213	26,1	2,6	64,3	1,95
<i>B. catenulatum</i>	20103	43,1	23,1	8,3	3,71
	20224	57,9	31,9	3,1	4,20
<i>B. infantis</i>	20223	59,8	21,1	8,5	3,62
<i>B. pseudo- catenulatum</i>	20438	42,4	17,6	21,8	1,51

Die Ergebnisse zeigen, dass Isomalt von Bifidobakterien abgebaut, zu Wachstum und Vermehrung genutzt wird und im Darmtrakt zu einer Stimulation von Laktobakterien, insbesondere Bifidobakterien führen kann.

Beispiel 4: Vergleich der Abbaurate von Isomalt und Fructooligosacchariden während der *in vitro*-Fermentation mit humanen Darmbakterien

Aus Stuhlproben von Probanden wurde unter anaeroben Bedingungen in 50 mmol/l Phosphatpuffer, pH 7,0 eine 10%ige Fäzessuspension hergestellt und diese zur Beimpfung des folgenden Nährmediums eingesetzt:

	Trypton	1,5 g
	Hefe-Extrakt	1,0 g
	KH ₂ PO ₄	0,24 g
	Na ₂ HPO ₄	0,24 g
5	(NH ₄) ₂ SO ₄	1,24 g
	NaCl	0,48 g
	MgSO ₄ x 7 H ₂ O	0,10 g
	CaCl ₂ x 2 H ₂ O	0,06 g
	FeSO ₄ x 7 H ₂ O	2 mg
10	Resazurin	1 mg
	Cystein/HCl	0,5 g
	Vitaminlösung (nach DSM 141)	0,5 ml
	Spurenelementlösung (nach DSM 141)	9,0 ml
	NaHCO ₃	2,0 g
15	H ₂ O dest. ad 1000 ml, p 7,0	

Zur Kultivierung von Darmbakterien mit Isomalt beziehungsweise Fructooligosacchariden wurden 9 ml des aufgeführten anaeroben Mediums mit 0,5 % (w/v) des zu testenden Kohlenhydrats versetzt und anschließend mit 1 ml der 10 %igen Fäzessuspension beimpft.

20 Hungate-Röhrchen wurden für 28 h unter Schütteln bei 37°C inkubiert, zu unterschiedlichen Zeitpunkten Proben entnommen und diese auf den Anteil restlichen Kohlenhydrats untersucht.

Wie aus der Figur 2 hervorgeht, wurden die in in vitro-Fermentationsversuchen eingesetzten Fructooligosaccharide innerhalb von

25 ca. 8 h vollständig verstoffwechselt, im Falle von Fermentationsexperimenten mit Isomalt war erst nach 14 h kein Kohlenhydrat mehr nachweisbar.

Während der in vitro-Fermentation von Isomalt wurden deutlich höhere Konzentrationen an Butyrat gebildet (14,2 mmol/l). Bei der Fermentation von Fructooligosacchariden wurden lediglich 2,5 mmol/l

30 Butyrat synthetisiert (Figur 3).

Isomalt wird von humaner Darmflora langsamer fermentativ verstoffwechselt und führt dabei zu einer höheren Butyratproduktion als Fructooligosaccharide.

Beispiel 5: Süßwaren

5 Hartkaramellen

	Isomalt	375 g
	Wasser	120 g
	Zitronensäure	4 g
	Aroma	0,6 g
10	Farbe	0,3 g

Isomalt und Wasser im Bonbonkocher auf 155-160°C kochen. 5 min bei vollem Vakuum vakuumieren. Abkühlen der Masse auf 110-115°C. Zugabe von Säure, Aroma, Farblösung. Die Schmelze wird geprägt oder gegossen.

15 Weichkaramellen

	Isomalt	121 g
	Maltitsirup (75 % TS)	256 g
	Wasser	25 g
	Gelatine 120 Bloom (40 %)	18 g
20	Pflanzenfett (34-36°Sp)	29 g
	Emulgator	3,8 g
	Zitronensäure (Monohydrat)	3,5 g
	Farbe (10 %ige Lösung)	0,4 g
	Aroma	1 g

25 Isomalt, Maltitsirup und Wasser auf 132-136°C (je nach gewünschter Konsistenz) kochen. Zugabe der Gelatine-Lösung. Zugabe von Pflanzenfett, Emulgator, Zitronensäure, und Farbe in angegebener Reihenfolge und bei hoher Geschwindigkeit 2-3 Minuten mischen bis

eine homogene Mischung erreicht ist. Aroma zugeben und mischen, Entleeren des Kessels. Homogenisieren der Masse. Kühlen der Masse auf 44-46°C. Gekühlte Weichkaramellmasse 5-10 Minuten ziehen lassen (Temperatur dann 47-49°C) und weiterverarbeiten.

5 Geleefrüchte

	Isomalt	152 g
	Lycasin	235 g
	Obipektin Gelbband 1500	6,5 g
	Zitronensäure krist. monohydr.	2,5 g
10	Wasser	100 g
	Farbe	0,5 g
	Aroma	1 g

- Pektin mit ca. 10 % Isomalt trocken vermischen und unter Rühren ins kalte Wasser einstreuen. Aufkochen und so lange kochen, bis die
- 15 Lösung klar ist. Das restliche Isomalt und Lycasin zugeben. Auf etwa 78°Brix einkochen. Zitronensäure in etwas Wasser gelöst zugeben, Farbe und Aroma zufügen und in Puderkästen gießen.

Beispiel 6: Hundenahrung

Hundekuchen

20	150 g	Quark
	120 g	Milch
	90 g	Sonnenblumenöl
	35 g	Eigelb
	200 g	gemahlene Hundeflocken
25	150 g	geriebener Käse
	45 g	Isomalt

Die Zutaten mischen, kleine Kugeln formen und bei 200°C etwa 20 Minuten backen.

Hundecookies

	150 g	Weizenvollkornmehl
	200 g	Vollkornhaferflocken
	5 g	gekörnte Hühnerbrühe
5	100 g	Vollei
	200 g	Milch
	75 g	Isomalt

Die Zutaten mischen, Teig ausrollen, Cookies ausstechen und bei 220°C etwa 15 Minuten backen.

10 Beispiel 7: Präbiotische und synbiotische FuttermischungenPräbiotische Futtermischung zur Ferkelaufzucht

	Mais	40,00 g
	Weizen	19,51 g
	Sojaextraktionsschrot	24,36 g
15	Protex	5,00 g
	Sojaöl	1,00 g
	L-Lysin	0,34 g
	DL-Methionin	0,05 g
	Vit.-Mineralfutter	2,24 g
20	Isomalt	7,50 g

Synbiotische Futtermischung zur Ferkelaufzucht

	Mais	40,00 g
	Weizen	19,51 g
	Sojaextraktionsschrot	24,36 g
25	Protex	5,00 g
	Sojaöl	1,00 g
	L-Lysin	0,34 g
	DL-Methionin	0,05 g

Vit.-Mineralfutter	2,24 g
Probiotischer Stamm	0,01 g
z.B. <i>Pediococcus acidilactici</i>	
Isomalt	7,50 g

5 Beispiel 8: Müsli

Müsliriegel

	200 g	Haferflocken
	100 g	Cornflakes
	100 g	Haselnüsse
10	50 g	Sonnenblumenkerne
	30 g	Kokosraspel
	150 g	Isomalt
	150 g	Honig
	50 g	Butter
15	20 g	Zitronensaft
	20 g	Wasser

Isomalt, Honig, Butter, Zitronensaft und Wasser karamellisieren. Haferflocken, Cornflakes, Nüsse, Sonnenblumenkerne und Kokosraspel mischen und zugeben. Masse gut vermischen und auf einem Backblech ausstreichen. Riegel ausschneiden, verpacken und trocken lagern.

Winter-Birchermüsli

	80 g	Haferflocken
	40 g	Hirseflocken
25	20 g	Weizenkeimflocken
	40 g	Zitronensaft
	150 g	Joghurt
	20 g	Sanddorn
	50 g	gehackte Nüsse

	10 g	Rosinen
	400 g	Äpfel
	200 g	Birnen
	300 g	Orangen
5	150 g	Bananen
	60 g	Isomalt

Flocken, Joghurt, Sanddorn und Nüsse mischen. Den Apfel grob reiben, mit Zitronensaft mischen und zugeben. Die übrigen Früchte würfeln, mit Isomalt mischen und zugeben.

10 Beispiel 9: Getränke

Power-Drink

	300 g	Orangensaft
	30 g	Weizenkeime
	15 g	Isomalt
15	200 g	Joghurt

Den Orangensaft mit Weizenkeimen und Isomalt verquirlen und den Joghurt unterrühren.

Sportlercocktail

	250 g	Möhren
20	200 g	Salatgurke
	200 g	Tomaten
	250 g	Äpfel
	100 g	Sahne
	10 g	Petersilie
25	50 g	Isomalt

Möhren, Salatgurke, Tomaten und Äpfel entsaften. Sahne, Petersilie und Isomalt hinzufügen.

Tomatencocktail

	800 g	Tomaten
	100 g	Sahne
	100 g	Orangensaft
5	0,5 g	Salz
	10 g	Isomalt
	0,5 g	Paprika
	0,5 g	Tabasco

Tomaten pürieren und mit restlichen Zutaten mischen.

10 Beispiel 10: FruchtzubereitungenFrüchtepüree

	Beerenfrüchte	230 g
	Isomalt	220 g
	Bindemittel-Mix	53 g
15	Aromastoffe und gegebenenfalls Farbe	

Früchte pürieren, aufkochen, während des gesamten Herstellungsverfahrens muss gerührt werden. Isomalt zufügen und kochen. Bindemittel-Mix klumpenfrei untermischen. Einkochen bis max. 75-80 % Trockensubstanz.

20 Beispiel 11: Dessert (Milchprodukt)Dessert-Creme

	Isomalt	334 g
	Magermilchpulver	110 g
	Maisstärke	37 g
25	Carageen	13 g

Vanillearoma	5 g
Gelbe Farbe	0,05 g

Alle Komponenten gut miteinander mischen. In einem Teil 2500 ml Vollmilch das Pulver glatt rühren. Den Rest der Milch aufkochen. Die
 5 Pulver-Mischung in die kochende Milch rühren und aufkochen. Abfüllen und bis zum Verzehr kühl aufbewahren.

Beispiel 12: Konfitüre

Südzucker-Gelierzucker-Rezeptur

	Rezeptur	GZ 2 plus 1 g
10	amidiertes Pektin	6,4 g
	Citronensäure	3,8 g
	Sorbinsäure	0,6 g
	Isomalt	489,2 g
	Fruchtmenge	970,0 g
15	Kochzeit jeweils 4 Minuten	

Sauerkirschkonfitüre

	Isomalt	125 g
	Sauerkirschen	225 g
20	Pektin	4,5 g
	Zitronensäure	4,5 g
	Calciumcitrat	0,5 g
	L-Ascorbinsäure	0,25 g
	Sorbinsäure	0,25 g
25	Wasser	150 g

Pektin mit 1/3 des Isomalt vermischen. Wasser mit zerkleinerten Kirschen und Pektin/Isomalt-Mischung erhitzen. Kurz vor dem Kochen

restliche Menge Isomalt und die anderen Zutaten zugeben. Zwei Minuten kochen. Abfüllen in Gläser und Deckeln.

Beispiel 13: Backwaren

Frühstückshörnchen

5	Hefe	25,00 g
	Sahne	300,00 g
	Zucker	25,00 g
	Isomalt	50,00 g
10	Weizenmehl Typ 550	400,00 g
	Salz	0,15 g
	Margarine	200,00 g
	Eigelb	50,00 g

15 Hefe, lauwarme Sahne, 1 Prise Salz und 1 Prise Mehl verrühren. 10 min. gehen lassen. Mit weiteren Zutaten verkneten und 20 min. gehen lassen. Teig durchkneten, ausrollen, 15 Dreiecke ausschneiden und zu Hörnchen aufrollen. Kurz aufgehen lassen und 10 Min. bei 200°C backen.

Weißbrot

20	Hefe	40,0 g
	Zucker	15,0 g
	Isomalt	30,0 g
	Weizenmehl Typ 550	1000,0 g
25	Milch	500,0 g
	Margarine	250,0 g
	abgeriebene Zitronenschale	2,5 g
	Vollei	50,0 g

Hefe mit Zucker in lauwarme Milch einrühren und 10 min. gehen lassen. Mit den weiteren Zutaten kneten und 20 min. gehen lassen. In einer Brotbackform 45 Min. bei 175°C backen.

Sesambrot

5	Hefe	60,00 g
	Milch	500,00 g
	Zucker	30,00 g
	Isomalt	60,00 g
10	Weizenmehl Typ 550	300,00 g
	Roggenmehl Typ 1150	250,00 g
	Weizenschrot Typ 1700	200,00 g
	Salz	0,15 g
	Margarine	100,00 g
15	Sesamsaat	100,00 g

Herstellung siehe Weißbrot

Hartkekse

	Weizenmehl Type 550	312 g
	Isomalt	78 g
20	Erdnuss-Hartfett	
	(Schmelzpunkt ca. 35°C)	31 g
	Salz	1,5 g
	Zitronensäure	
	(10%ige wässrige Lösung)	1,5 g
25	Milch	70 g
	Ammonium-bicarbonat	3 g
	Natrium-bicarbonat	1,5 g

Suspensionen aus Milch, Isomalt, Salz, Zitronensäure und Triebmittel wird mit der Hälfte Mehl zu einem Vorteig geknetet. Danach Herstellung des Hauptteiges aus Vorteig, Fett und restlichem Mehl.

Knetzeit, Vorteig 7 min, Hauptteig: 13 min, Teigruhezeit: ca. 20 min.
 Backtemperatur: Temperaturkurve von 200°C, 300°C, 270°C. Backzeit ca. 6 min bei Verwendung eines Durchlaufofens.

Feinteig ohne Hefe

5	Rezeptur:	Mürbekeks	Vollkornkeks
	Weizenmehl Type 550	51,5 g	25,2 g
	Weizenvollkornschrot	-	25,2 g
	Isomalt	15,5 g	20 g
	Backmargarine, fest	25,8 g	20,1 g
10	Salz	0,3 g	0,3 g
	Wasser	6,7 g	9 g
	Ammonium-bicarbonat	0,2 g	0,2 g

Fettstoffe mit einem Drittel der Mehlmenge schaumig rühren, dann Isomalt, Salz und allmählich die Flüssigkeit zugeben und weiterrühren, bis die Masse glatt ist. Zum Schluss das restliche Mehl unterarbeiten. Backtemperatur: zum Beispiel 200°C, ca. 9-13 min bei Verwendung eines Einschießofens.

Beispiel 14: Milchprodukte

Joghurt-Zitronenshake

20 600 g Magerjoghurt
 160 g Zitronensaft
 60 g Honig
 30 g Isomalt
 120 g Eigelb

25 Zutaten mischen

Joghurtcreme mit Himbeeren

	450 g	Vollmilchjoghurt
	8 g	Gelatine
	150 g	Isomalt
5	20 g	Zitronensaft
	20 g	Vollmilch
	150 ml	Sahne
	300 g	Himbeeren

- 10 Die Gelatine einweichen. Joghurt, Isomalt, Zitronensaft und Vollmilch glatt rühren. Die Gelatine auflösen und zugeben. Sahne steif schlagen und unter die Masse ziehen. Himbeeren in eine Schüssel füllen und Joghurtmasse darüber geben.

Literaturverzeichnis:

- 15
- Cummings JH, Macfarlane GT, Englyst HN. Prebiotic digestion and fermentation. Am. J. Clin. Nutr. (2001) Feb; 73 (2 Suppl):415S-420S
 - Kummel, KF & Brokx, S. Lactitol as functional prebiotic. Cereal Foods World (2001), 46, 425-429
- 20
- Kashimura, J, Fujisawa, T, Nakajima, Y, Nishio, K, Mitsuoka, T. Utilization of palatinose, palatinose condensates, trehalulose and Isomalt by various intestinal bacteria. J. Jpn. Soc. Nutr. Food. Sci. (1991), 44, 54-59.
 - Fuller R. Probiotics in man and animals. J Appl. Bacteriol. 1989, 66:365-378
- 25
- Kleessen B, Hartmann L, Blaut M. Oligofructose and long-chain inulin: influence on the gut microbial ecology of rats as-

sociated with a human faecal flora. Br. J. Nutr. (2001), 86(2):291-300.

- 5 • Schwiertz A, Le Blay G, Blaut M. Quantification of different Eubacterium spp. in human fecal samples with species-specific 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes. Appl. Environ. Microbiol. (2000), 66(1):375-82.

Ansprüche

1. Verwendung einer Mischung aus 6-O- α -D-Glucopyranosyl-D-sorbit (1,6-GPS) und 1-O- α -D-Glucopyranosyl-D-mannit (1,1-GPM) als Präbiotikum.
- 5 2. Verwendung nach Anspruch 1 als bifidogenes Präbiotikum.
3. Verwendung nach Anspruch 1 als butyrogenes Substrat mit Eigenschaften löslicher Ballaststoffe.
4. Verwendung nach Anspruch 1 als Substanz mit Eigenschaften von Faser- und Ballaststoffen und/oder unverdaulichen Kohlenhydraten.
10
5. Verwendung nach Anspruch 1 als Substanz mit präbiotischen Eigenschaften.
6. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Mischung in einem Lebens-, Genuss- oder Futtermittel eingesetzt wird.
15
7. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Mischung das einzige butyrogene Substrat ist.
8. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Mischung das einzige Präbiotikum, insbesondere bifidogene Präbiotikum, in dem Lebens-, Genuss-, Futter- oder Arzneimittel ist.
20
9. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Mischung Isomalt ist.
10. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Mischung 1-O- α -D-Glucopyranosyl-D-sorbit (1,1-GPS) enthält.

11. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Mischung Mannit, Sorbit, hydrierte und/oder nicht-hydrierte Oligosaccharide enthält.
12. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei
5 die Mischung mindestens ein weiteres Präbiotikum aufweist.
13. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Mischung, insbesondere neben Isomalt, mindestens einen weiteren Ballaststoff und/oder unverdauliches Kohlenhydrat enthält.
14. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei
10 der Ballaststoff ein Oligo- oder Polysaccharid, wie Fructo-Oligosaccharid, Polydextrose, Xyloarabane, Inulin, ein Galacto-Oligosaccharid, Lactulose, Lactit, ein Xylo-Oligosaccharid, Lacto-Saccharose, ein Malto-Oligosaccharid, ein Isomalto-Oligosaccharid, ein Gento-Oligosaccharid, Glucosylsaccharose, ein Sojabohnen-
15 Oligosaccharid, ein Chito-Oligosaccharid, ein Chitosan-Oligosaccharid, ein Pektin, ein kondensiertes Oligosaccharid, ein Karamelprodukt, ein Galactomannan-Oligosaccharid, ein Fucosehaltiges Oligosaccharid, ein Fucosederivate-haltiges Oligosaccharid, modifizierte Stärke, partiell hydrolysierter Guar Gummi, Maltit, Sorbit,
20 Mannit, Xylit, Erythrit, hydriertes Stärkehydrolysat, Pyrodextrin oder eine durch partielle Hydrolyse, Hydrierung, Oxidation, enzymatische, chemische oder andere Modifikation von Sacchariden erhaltene Variante ist.
15. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei
25 der unlösliche Ballaststoff resistente Stärke und/oder Faserstoff aus Weizen, Hafer, Tomate, Bohne, der Frucht des Johannisbrotbaums, Zuckerrübe oder Cellulose ist.
16. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Mischung mindestens ein unverdauliches Kohlenhydrat enthält.

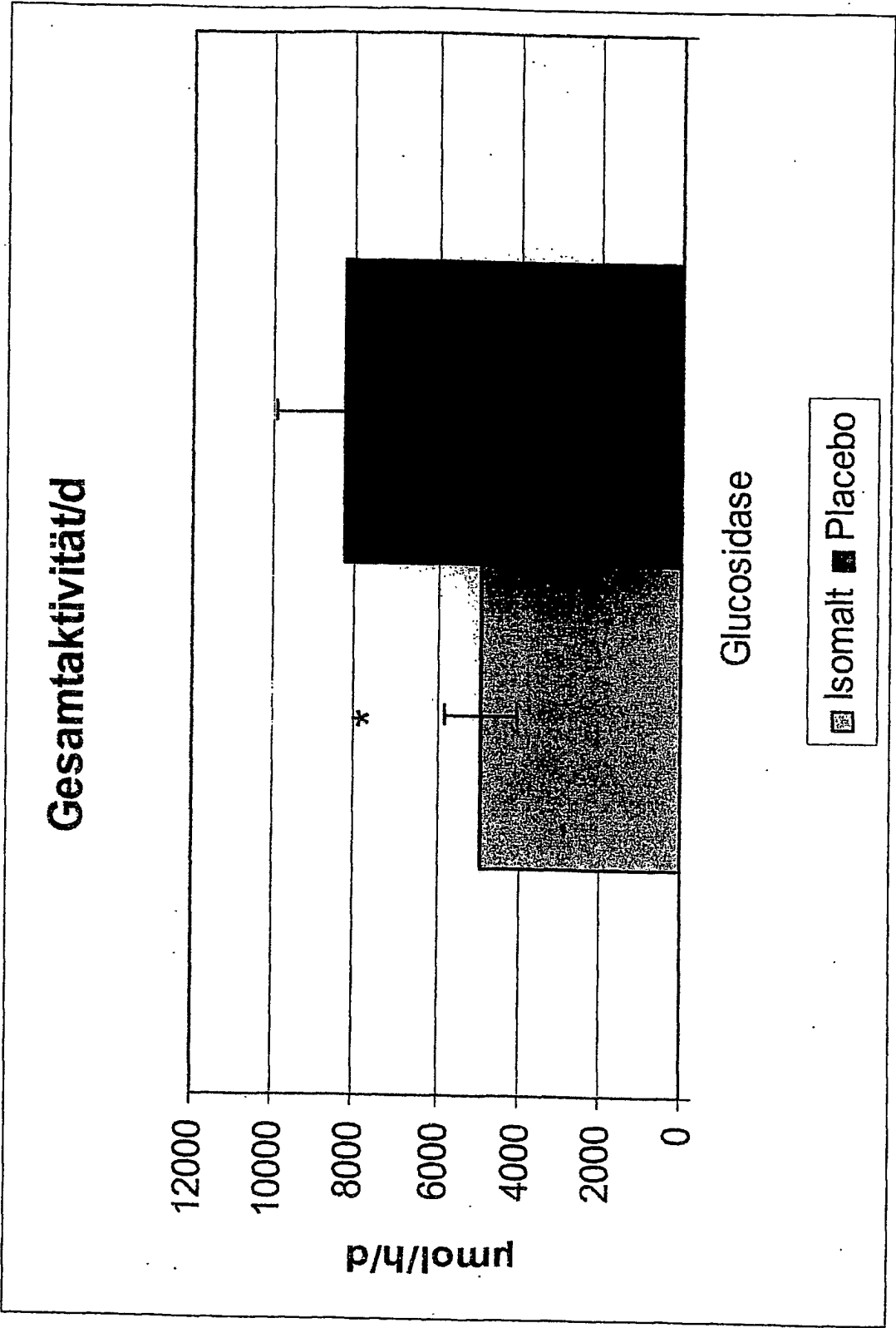
17. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Mischung mindestens ein Probiotikum enthält.
18. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das Probiotikum von der Gattung *Lactobacillus* und/oder *Bifidobacterium* abgeleitet ist.
19. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Mischung als Synbiotikum vorliegt.
20. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Mischung im Lebens-, Genuss-, Futter- oder Arzneimittel in fester Form vorliegt.
21. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Mischung im Lebens-, Genuss-, Futter- oder Arzneimittel in Wasser suspendiert oder gelöst vorliegt.
22. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche zur Herstellung eines Lebens-, Genuss-, oder Futtermittels.
23. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche zur Herstellung eines Arzneimittels.
24. Verwendung nach Anspruch 23 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung und/oder Vorbeugung von Darmerkrankungen.
25. Verwendung nach Anspruch 23 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Wiederherstellung und/oder Stabilisierung einer gesunden Darmflora.
26. Verwendung nach Anspruch 23 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Erhaltung eines gesunden Darmepithels.

27. Verwendung nach Anspruch 23 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Unterstützung der Darmgesundheit.
28. Verwendung nach Anspruch 23 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Wiederherstellung und/oder Förderung eines
5 gesunden Darmflorastoffwechsels.
29. Verwendung nach Anspruch 23 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Reduktion toxischer und schädigender Darminhalte.
30. Verwendung nach Anspruch 23 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Reduktion von oxidativem Stress.
- 10 31. Verwendung nach Anspruch 23 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Verhinderung und/oder Behandlung von chronisch entzündlichen Darmerkrankungen.
32. Verwendung nach Anspruch 23 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Vorbeugung von Darmkrebs, insbesondere
15 Dickdarmkrebs.
33. Verwendung nach Anspruch 23 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Prophylaxe und/oder Behandlung von Infektionserkrankungen, insbesondere bakteriellen Darminfektionen und Durchfallerkrankungen
- 20 34. Verwendung nach Anspruch 23 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Modulation und Stärkung des Immunsystems.
35. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das Lebens-, Genuss- oder Futtermittel ein Milcherzeugnis oder ein Milchprodukt wie Käse-, Butter-, Joghurt-, Trinkjoghurt-, Kefir-,
25 Quark-, Sauermilch-, Buttermilch-, Sahne-, Kondensmilch-, Trockenmilch-, Molke-, Milchezucker-, Milcheiweiß-, Milchmisch-, Milchhalbfett-, Molkenmisch-, oder MilCHFett-Produkt oder -

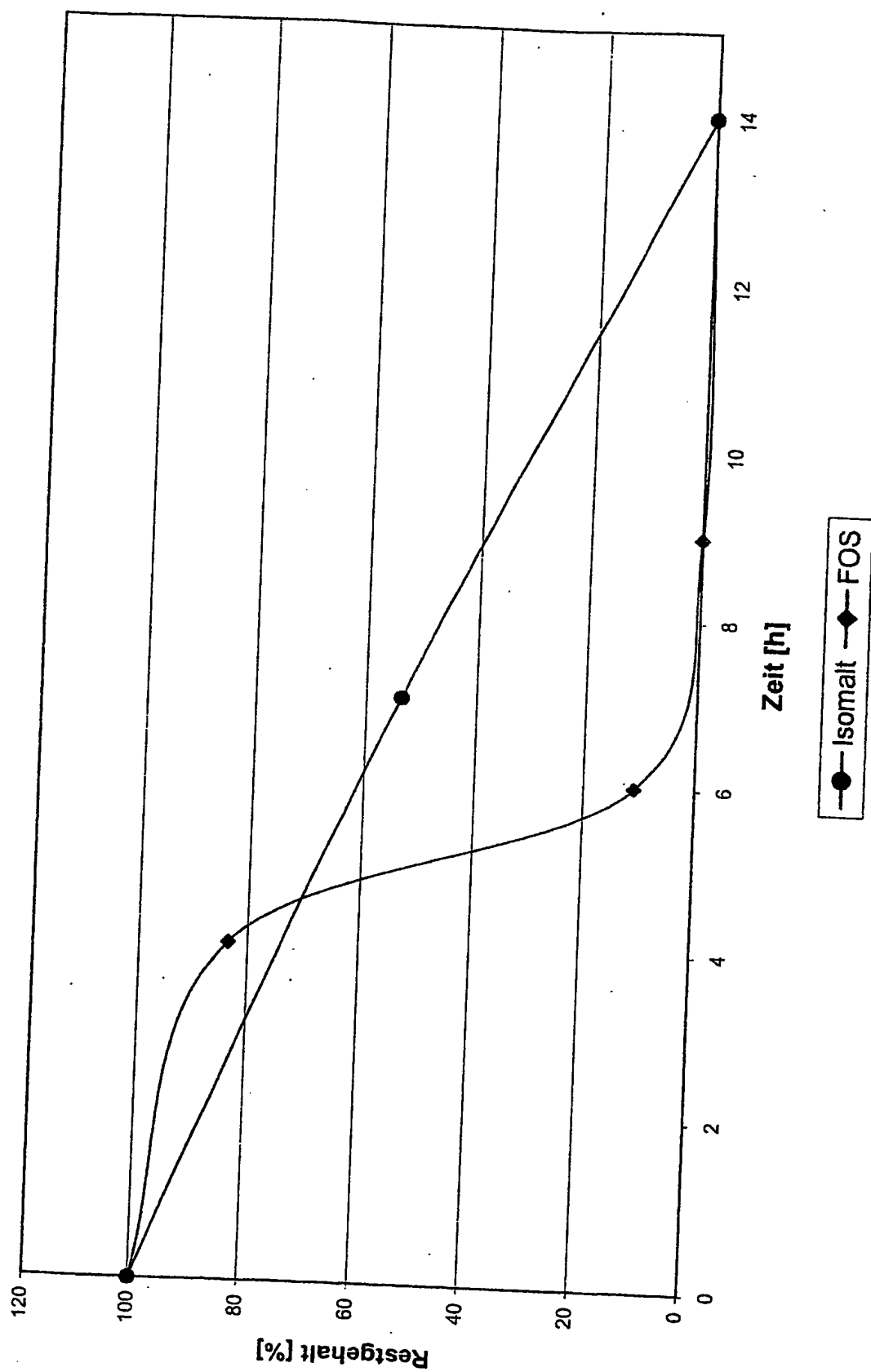
- Zubereitung; eine Backware, insbesondere Brot, Brötchen, Croissant einschließlich Kleingebäck oder feine Backware einschließlich Dauerbackware, Keksprodukt oder Waffel; ein Brotaufstrich; Margarine-Erzeugnis; Backfett; ein Instantprodukt; Brüherzeugnis; 5 ein Obstprodukt; eine Obstzubereitung wie Konfitüre, Marmelade, Gelee, Obstkonserve, Fruchtpulpe, Fruchtmarmelade, Fruchtsaft, Fruchtkonzentrat, Fruchtnektar oder Fruchtpulver; ein Gemüseerzeugnis oder -zubereitung wie Gemüsekonzentrat, Gemüsesaft oder Gemüsemark; eine Gewürzmischung; ein Müsli 10 oder eine Müsli-Mischung; ein fertig zubereitetes Müsli enthaltendes Produkt; ein nicht-alkoholisches Getränk, wie Sportlergetränk und diätetische Limonade; Getränkegrundstoff; Getränpulver; eine Süßware wie Schokolade, Hartkaramelle, Weichkaramelle, Kaugummi, Dragee, Fondant-Erzeugnis, Gelee-Erzeugnis, Lakritz, 15 Schaumzuckerware, Flocken, Dragee, Komprimat, kandierte Frucht, Krokant, Nougat-Erzeugnis, Eiskonfekt, Marzipan, Müsliriegel, Speiseeis, alkoholisches und nicht-alkoholisches Süßgetränk; enterale Ernährungsform oder ein Tierfuttermittel ist.
36. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche zur 20 Behandlung und/oder Vorbeugung von Darmerkrankungen.
37. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche zur Wiederherstellung und/oder Stabilisierung einer gesunden Darmflora.
38. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche zur 25 Erhaltung eines gesunden Darmepithels.
39. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche zur Unterstützung der Darmgesundheit.
40. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche zur 30 Wiederherstellung und/oder Förderung eines gesunden Darmflorastoffwechsels.

41. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche zur Reduktion toxischer und schädigender Darminhalte.
42. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche zur Reduktion von oxidativem Stress.
- 5 43. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche zur Verhinderung und/oder Behandlung von chronisch entzündlichen Darmerkrankungen.
44. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche zur Vorbeugung von Darmkrebs, insbesondere Dickdarmkrebs.
- 10 45. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche zur Prophylaxe und/oder Behandlung von Infektionserkrankungen, insbesondere bakteriellen Darminfektionen und Durchfallerkrankungen
- 15 46. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche zur Modulation und Stärkung des Immunsystems.

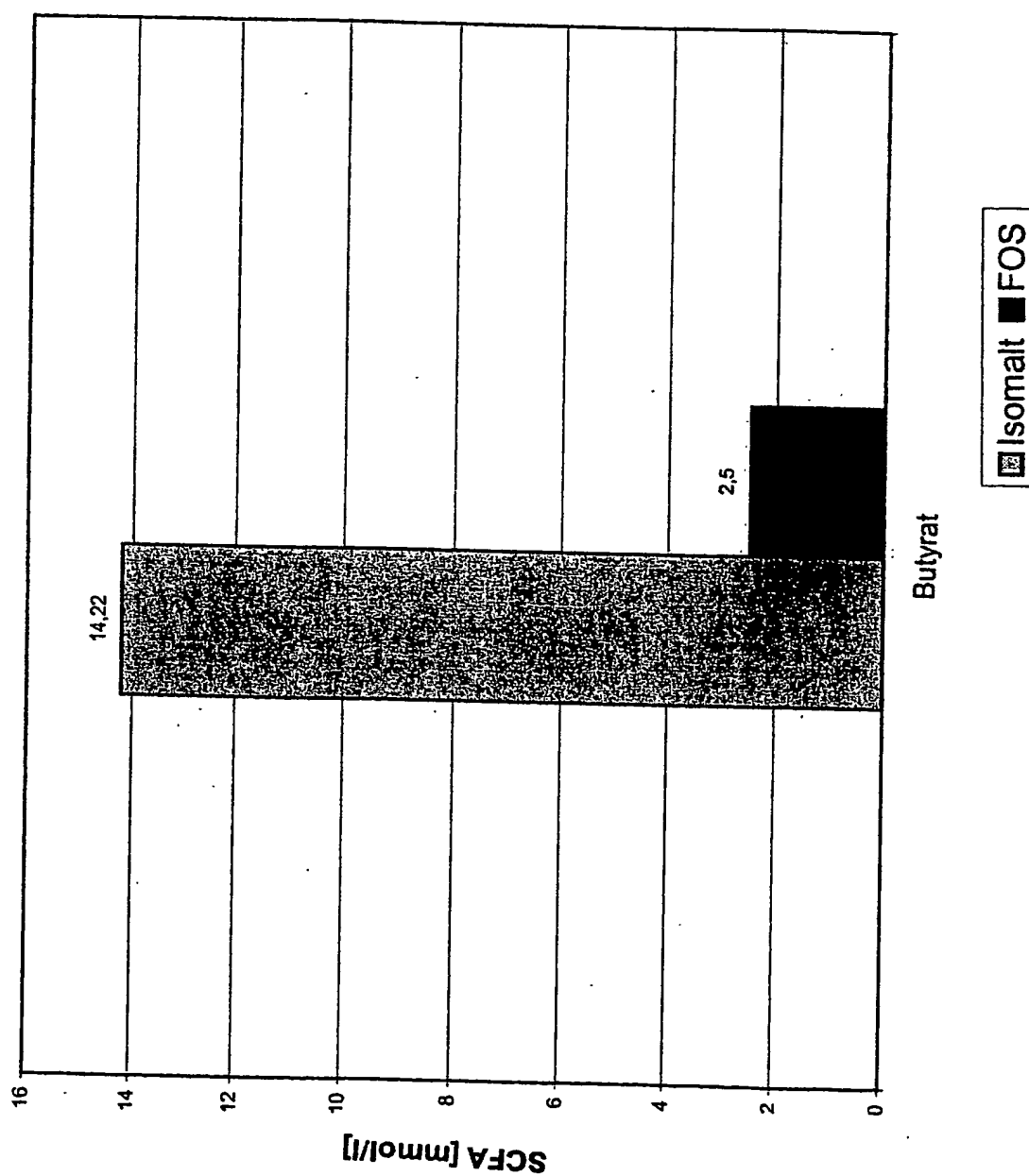
Figur 1



Figur 2



Figur 3



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP2004/006030

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A23L1/236 A61K31/7016 A61P1/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 A61L A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 99/55342 A (KOZIANOWSKI GUNHILD ; DOERR TILLMAN (DE); KUNZ MARKWART (DE); RAPP KNU) 4 November 1999 (1999-11-04)	1-24, 27, 33, 34, 36, 39, 45, 46 25, 26, 28-32, 35, 37, 38, 40-44
Y	claims 1-3	
	----- -/-	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

28 September 2004

Date of mailing of the international search report

08/10/2004

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Baumgärtner, H

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP2004/006030

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DE 101 04 055 A (SUEDZUCKER AG) 14 August 2002 (2002-08-14)	1-24, 27, 33, 34, 36, 39, 45, 46
Y	Seite 2, Zeile 3-8 '0001! Seite 3, Zeile 10-28 '0011! Seite 4, Zeile 64-68 '0024! Seite 5, Zeile 3-8 '0025! claim 7	25, 26, 28-32, 35, 37, 38, 40-44
Y	WO 99/09839 A (HAARASILTA SAMPSA ; CULTOR CORP (FI); REINIKAINEN TAPANI (FI)) 4 March 1999 (1999-03-04) page 1, lines 14-17 page 4, lines 2-11 page 5, lines 22-35 page 6, lines 2-10	25, 26, 28-32, 35, 37, 38, 40-44
E	WO 2004/052121 A (NOVARTIS NUTRITION AG ; BEER MICHAEL (CH); GIBSON GLENN R' (GB)) 24 June 2004 (2004-06-24) claims 1, 13-17.	25, 26, 28-32, 35, 37, 38, 40-44

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP2004/006030

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9955342	A	04-11-1999	DE 19818842 C1 AT 275404 T AU 750373 B2 AU 4034599 A BR 9910024 A CA 2330563 A1 WO 9955342 A1 EP 1079839 A1 HU 0101490 A2 JP 2002512966 T NO 20005332 A NZ 508371 A RU 2216329 C2 TR 200003156 T2 US 6139864 A	05-01-2000 15-09-2004 18-07-2002 16-11-1999 26-12-2000 04-11-1999 04-11-1999 07-03-2001 28-08-2001 08-05-2002 22-12-2000 27-09-2002 20-11-2003 21-03-2001 31-10-2000
DE 10104055	A	14-08-2002	DE 10104055 A1 WO 02060452 A2 EP 1357917 A2	14-08-2002 08-08-2002 05-11-2003
WO 9909839	A	04-03-1999	FI 973475 A AU 8865098 A WO 9909839 A1	23-02-1999 16-03-1999 04-03-1999
WO 2004052121	A	24-06-2004	WO 2004052121 A1 US 2004131659 A1	24-06-2004 08-07-2004

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2004/006030

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 A23L1/236 A61K31/7016 A61P1/00

Nach der internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 A61L A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data, PAJ

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 99/55342 A (KOZIANOWSKI GUNHILD ; DOERR TILLMAN (DE); KUNZ MARKWART (DE); RAPP KNU) 4. November 1999 (1999-11-04)	1-24, 27, 33, 34, 36, 39, 45, 46
Y	Ansprüche 1-3 ----- -/-	25, 26, 28-32, 35, 37, 38, 40-44

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

28. September 2004

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

08/10/2004

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Baumgärtner, H

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2004/006030

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	DE 101 04 055 A (SUEDZUCKER AG) 14. August 2002 (2002-08-14)	1-24, 27, 33, 34, 36, 39, 45, 46
Y	Seite 2, Zeile 3-8 '0001! Seite 3, Zeile 10-28 '0011! Seite 4, Zeile 64-68 '0024! Seite 5, Zeile 3-8 '0025! Anspruch 7	25, 26, 28-32, 35, 37, 38, 40-44
Y	WO 99/09839 A (HAARASILTA SAMPSA ; CULTOR CORP (FI); REINIKAINEN TAPANI (FI)) 4. März 1999 (1999-03-04) Seite 1, Zeilen 14-17 Seite 4, Zeilen 2-11 Seite 5, Zeilen 22-35 Seite 6, Zeilen 2-10	25, 26, 28-32, 35, 37, 38, 40-44
E	WO 2004/052121 A (NOVARTIS NUTRITION AG ; BEER MICHAEL (CH); GIBSON GLENN R (GB)) 24. Juni 2004 (2004-06-24) Ansprüche 1, 13-17	25, 26, 28-32, 35, 37, 38, 40-44

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2004/006030

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9955342	A	04-11-1999	DE 19818842 C1	05-01-2000
			AT 275404 T	15-09-2004
			AU 750373 B2	18-07-2002
			AU 4034599 A	16-11-1999
			BR 9910024 A	26-12-2000
			CA 2330563 A1	04-11-1999
			WO 9955342 A1	04-11-1999
			EP 1079839 A1	07-03-2001
			HU 0101490 A2	28-08-2001
			JP 2002512966 T	08-05-2002
			NO 20005332 A	22-12-2000
			NZ 508371 A	27-09-2002
			RU 2216329 C2	20-11-2003
			TR 200003156 T2	21-03-2001
			US 6139864 A	31-10-2000
DE 10104055	A	14-08-2002	DE 10104055 A1	14-08-2002
			WO 02060452 A2	08-08-2002
			EP 1357917 A2	05-11-2003
WO 9909839	A	04-03-1999	FI 973475 A	23-02-1999
			AU 8865098 A	16-03-1999
			WO 9909839 A1	04-03-1999
WO 2004052121	A	24-06-2004	WO 2004052121 A1	24-06-2004
			US 2004131659 A1	08-07-2004

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☒ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.